

Title	Constitutive Activation of Integrin α_9 Augments Self-Directed Hyperplastic and Proinflammatory Properties of Fibroblast-like Synoviocytes of Rheumatoid Arthritis(Abstract_要旨)
Author(s)	Emori, Takashi
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-05-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.r13195
Right	Authors can include the final, published version of the article in a thesis and/or dissertation in print. If required by the degree-conferring institution, an electronic version of the final, published version may be deposited into a thesis repository as long as a link to the article on The Journal of Immunology Web site is included. Final publication is available at http://www.jimmunol.org/content/199/10/3427 .
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	江森 崇
論文題目	Constitutive Activation of Integrin $\alpha 9$ Augments Self-Directed Hyperplastic and Proinflammatory Properties of Fibroblast-like Synoviocytes of Rheumatoid Arthritis (インテグリン $\alpha 9$ の恒常的な活性化は関節リウマチ滑膜線維芽細胞の自発的な肥厚形成能及び炎症応答を増強する)		
(論文内容の要旨)			
<p>関節リウマチ (RA) は、関節滑膜を病態の首座とする全身性の自己免疫疾患であり、滑膜の肥厚や炎症により、関節破壊が引き起こされる。RA 関節では、滑膜線維芽細胞 (RA-FLS) が活性化し、細胞重層化を伴う滑膜肥厚の形成や、種々の炎症性メディエーターの産生亢進を通じて滑膜炎を引き起こし、RA 関節病態形成において中心的な役割を果たしている。</p> <p>本研究では、RA-FLS に高発現しているインテグリン$\alpha 9$ ($\alpha 9$) 及びそのリガンドである Tenascin-C (Tn-C) の RA 滑膜炎における役割を解析した。RA あるいは変形性関節症 (OA) 患者関節より切除した滑膜組織より FLS を単離し、3D 培養すると、RA-FLS は患者組織に酷似した重層化構造を自発的に形成し、MMP や IL-6 などの炎症性メディエーターを高発現した。OA 滑膜組織由来の FLS (OA-FLS) では、重層化構造の形成は認められず、炎症性メディエーターの産生量も、RA-FLS に比べて低かった。種々のインテグリン及びそのリガンドである ECM タンパクの発現を解析したところ、$\alpha 9$ および Tn-C の遺伝子発現量は、OA-FLS に対して RA-FLS で有意に亢進していた。shRNA を用いて$\alpha 9$ あるいは Tn-C をノックダウン (KD) した RA-FLS では重層化構造の形成、MMP や IL-6、TNFSF11 の発現量が顕著に低下した。すなわち、RA-FLS において高発現していた$\alpha 9$ 及び Tn-C は、RA-FLS の異常な活性化の原因となっていることが示唆された。さらに、$\alpha 9$ を KD した RA-FLS では、Tn-C 発現量及び cadherin-11 発現量が有意に低下していた。これは、RA-FLS において、Tn-C が$\alpha 9$ 活性化を介して更なる Tn-C 発現を誘導するポジティブフィードバックループが働いていること、また、$\alpha 9$ 活性化が cadherin-11 発現を介して細胞接着能の亢進にも寄与していることが考えられた。</p> <p>次に、サイトカインや増殖因子の刺激に対する RA-FLS の炎症応答における$\alpha 9$ の役割を検討した。RA-FLS を PDGF 存在下で 3D 培養したところ、重層化能の顕著な亢進及びMMPやIL-6の産生量の亢進が認められた。一方で、TNF-α 存在下で 3D 培養すると、重層化能には変化はなかったが、MMP や IL-6 産生の顕著な亢進が認められた。$\alpha 9$ を KD した RA-FLS を用いて同様の検討をしたところ、重層化能亢進や MMP、IL-6 産生量の亢進が、ほぼ完全に抑制されていた。したがって、$\alpha 9$ の活性化は、細胞外刺激に対する RA-FLS の炎症応答においても重要な役割を果たしていると考えられた。</p> <p>さらに、$\alpha 9$ の病態意義を、RA 病態モデルとして知られるマウス抗コラーゲン抗体誘発関節炎モデル (CAIA モデル) にて検討した。CAIA モデルへのマウス$\alpha 9$ 阻害抗体投与により、関節腫脹、滑膜肥厚及び骨破壊が抑制された。関節における遺伝子発現を解析したところ、関節炎発症に伴う$\alpha 9$ や Tn-C、cadherin-11、MMP、IL-6 の発現亢進が、$\alpha 9$ 阻害抗体の投与によって抑制されていた。これらのデータより、RA-FLS の 3D 培養系で明らかにした、$\alpha 9$ 活</p>			

性化を介した病態形成のメカニズムが in vivo においても存在していること、さらに、 $\alpha 9$ の阻害抗体が、RA 滑膜炎の治療薬として極めて有用であるということが強く示唆された。

臨床応用可能な $\alpha 9$ 阻害薬を創出すべく、抗 $\alpha 9$ ヒト化抗体 ASP5094 を作成した。ASP5094 は、 $\alpha 9$ と Tn-C の結合及び 3D 培養した RA-FLS の重層化を濃度依存的に抑制した。一方で、TNF- α 阻害薬やインテグリン $\alpha 4$ 阻害薬にはこのような作用はなかった。

本研究では、 $\alpha 9$ の RA 滑膜炎成立における病態意義を明らかにするとともに、新規の RA 滑膜炎治療薬として ASP5094 を創成した。

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、関節リウマチ (RA) 由来の滑膜線維芽細胞 (FLS) に高発現している、インテグリン $\alpha 9$ ($\alpha 9$) の、滑膜炎成立における重要性を明らかにし、臨床応用可能なヒト化抗 $\alpha 9$ 抗体 ASP5094 を創製し、その薬効を検証した。RA 患者関節由来の FLS (RA-FLS) を 3 次元 (3D) 培養すると、患者組織に酷似した重層化構造を自発的に形成し、MMP や IL-6 などの炎症性メディエーターを高発現した。3D 培養した RA-FLS では、 $\alpha 9$ およびそのリガンド tenascin-C (Tn-C) の遺伝子発現は、同様に培養した変形性関節症患者滑膜由来 FLS (OA-FLS) に対し有意に亢進していた。 $\alpha 9$ あるいは Tn-C をノックダウン (KD) した RA-FLS では、自発的な重層化構造の形成、MMP や IL-6 の産生が顕著に低下していた。RA-FLS は、PDGF 存在下の 3D 培養において重層化能の亢進を、また、TNF- α あるいは PDGF 存在下の 3D 培養において MMP や IL-6 の産生量の亢進を示したが、これらの外因性刺激に対する応答は、 $\alpha 9$ を KD した RA-FLS では、ほぼ完全に消失していた。滑膜炎成立における $\alpha 9$ の重要性を in vivo にて解析するため、マウス関節炎モデルに $\alpha 9$ 阻害抗体を投与したところ、関節炎の発症は抑制され、関節における $\alpha 9$ 、Tn-C、cadherin-11、MMP、IL-6 の発現亢進も抑制された。臨床応用可能な $\alpha 9$ 阻害薬を創出すべく、抗 $\alpha 9$ ヒト化抗体 ASP5094 を作成した。本薬は、 $\alpha 9$ と Tn-C の結合及び 3D 培養した RA-FLS の重層化を濃度依存的に抑制した。本研究の結果は、ASP5094 の RA 治療薬としての有用性を強く示唆している。

以上の研究は関節リウマチの病態の解明に貢献し、新たな治療の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 3 0 年 4 月 1 6 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降